



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **70520**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 15518**

(22) Дата подання заявки: **28.12.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **11.06.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **11.06.2012, Бюл.№ 11**

(72) Винахідник(и):

**Хорош Володимир Ярославович (UA),
Мисак Андрій Іванович (UA)**

(73) Власник(и):

**ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я.
ГОРБАЧЕВСЬКОГО,
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)**

**(54) СПОСІБ ПОСТАНОВКИ ІМУНОДІАГНОСТИЧНОЇ ПРОБИ НА СІРОВАТКОВИЙ
ПРОСТАТОСПЕЦИФІЧНИЙ АНТИГЕН**

(57) Реферат:

Спосіб постановки імунодіагностичної проби на сироватковий простатоспецифічний антиген включає інкубацію стандартизованого препарату із дослідним біоматеріалом *in vitro*. На силіконоване предметне скло наносять препарат специфічного анти-ПСАз-антитіла, витримують, після наносять суспензію лейкоцитів. Мікропрепарат вміщують на предметний столик люмінесцентного мікроскопа і реєструють реакцію взаємодії між інгредієнтами.

UA 70520 U

Корисна модель стосується медицини, зокрема урології та онкології, і може бути використана для експрес-діагностики онкологічного захворювання передміхурової залози, а також в експериментальній онкології і урології.

Відомий спосіб постановки імунодіагностичної проби на сироватковий простатоспецифічний антиген, що включає інкубацію стандартизованого препарату із дослідним біоматеріалом *in vitro* [1]. За відомим способом здійснюють інкубацію стандартизованого препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла із сироваткою крові пацієнта в лунці мікропланшета з наступним фотометричним визначенням інтенсивності утвореної кольорової суміші.

Недоліками відомого способу є методична складність, що впливає із необхідності виконання достатньо складних технологічних етапів, які вимагають спеціального фотометричного обладнання, а також недостатній рівень ілюстративності проби. Вказані недоліки обмежують можливість проведення діагностичної проби на рівні експрес-аналізу на першому етапі діагностичного обстеження хворої людини.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом застосування клітинного за походженням інгредієнта вказаної імунодіагностичної проби досягають спрощення її методики, підвищення ілюстративності і технологічної доступності.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги те, що аутологічний простатоспецифічний ПСАз антиген як продукт передміхурової залози, зазвичай адсорбуються поверхню імунокомпетентних клітин, зокрема, лейкоцитів. В результаті, при внесенні до клітинної (лейкоцитарної) суспензії препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла відбувається взаємодія інгредієнтів з утворенням імунного комплексу АГ-АТ на поверхні лейкоцитів, які за умов активації певних компонентів системи комплементу зазнають цитолізу. Характер останнього, власне, й складає інформативну сутність імунодіагностичної проби.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі постановки імунодіагностичної проби на сироватковий простатоспецифічний антиген, що включає інкубацію стандартизованого препарату із дослідним біоматеріалом *in vitro*, відповідно до корисної моделі на силіконоване предметне скло наносять 20 мкл препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла у вигляді мікрокраплини, витримують упродовж 30-45 хв. при 18-24 °С для підсихання, після чого на поверхню скла наносять 20 мкл суспензії лейкоцитів в цитратній аутологічній плазмі пацієнта у вигляді краплі таким чином, щоб її край торкався по дотичній краю нанесеної краплини стандартизованого препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла, готовий мікропрепарат вміщують на предметний столик люмінесцентного мікроскопа і реєструють реакцію взаємодії між інгредієнтами упродовж 24 год. у режимі низької інтенсивності поляризованої флуоресценції при відкритій шторці плівкової фотокамери, причому діагностичний висновок формують за характером хемотаксису і імунного лізису лейкоцитів.

Перелік фігур.

Фіг. 1. Схема постановки імунодіагностичної проби *in vitro* між препаратом специфічного анти-ПСАз-антитіла і суспензією лейкоцитів в цитратній аутологічній плазмі:

- 1) предметне скло;
- 2) силіконована поверхня;
- 3) краплина препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла;
- 4) краплина суспензії лейкоцитів пацієнта в цитратній аутологічній плазмі.

Фіг. 2. Імунний лейкоцитоліз на межі контакту препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла з ізольованими лейкоцитами крові хворого на рак простати в мікропрепараті: інкубація 6 год. Поляризована флуоресценція. ЛЮОМ Р 8 МЗ: об.х 9; ок.х 15.

Фіг. 3. Імунний лейкоцитоліз на межі контакту препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла з ізольованими лейкоцитами при інкубації 24 год. Поляризована флуоресценція. ЛЮОМ Р 8 МЗ: об.х 9; ок.х 15.

Спосіб здійснюють наступним чином. На предметне скло 1 наносять тонкий шар силікону 2, на поверхню якого нашаровують 20 мкл препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла 3 і витримують упродовж 30-45 хв при 18-24 °С. Після його підсихання на силіконоване скло наносять 20 мкл суспензії лейкоцитів у цитратній аутологічній плазмі 4 у вигляді краплі таким чином, щоб її край торкався по дотичній краю краплини нанесеного специфічного препарату. Далі мікропрепарат вміщують на предметний столик люмінесцентного мікроскопа і реєструють реакцію взаємодії між інгредієнтами упродовж 24 год. у режимі низької інтенсивності флуоресценції при відкритій шторці плівкової фотокамери. Діагностичний висновок формують за характером хемотаксису і імунного лізису лейкоцитів.

Приклад 1. Кров із пальця пацієнта Л., 67 р., з діагнозом: рак передміхурової залози змішали із 2 % розчином цитрату натрію у співвідношенні 1:1. На предметне скло 1 (фіг. 1) із нанесеним тонким шаром силікону 2 нашарували 20 мкл препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла 3 і

витримували при 20 °С упродовж 40 хв. Далі на силіконоване скло нанесли 20 мкл суспензії лейкоцитів у цитратній аутологічній плазмі 4 таким чином, щоб обидві краплини взаємоторкалися по дотичній. Далі мікропрепарат вмістили на предметний столик люмінесцентного мікроскопа і реєстрували реакцію взаємодії між інгредієнтами упродовж 24 год. у режимі низької інтенсивності флуоресценції при відкритій шторці плівкової фотокамери. За характером хемотаксису і імунного лізису лейкоцитів зроблено висновок про наявність у сироватці крові пацієнта простатоспецифічного антигену. Як видно із фіг. 2, імунний лейкоцитоліз у мікропрепараті на межі контакту специфічних анти-ПСАз-антитіл із адсорбованим на поверхневій мембрані лейкоцитів антигеном достатньо рельєфно відображає процес утворення імунного комплексу, що засвідчує наявність у сироватці крові хворого простатоспецифічного антигену. Ще більш виразною виявилася вказана проба через 24 год. від початку інкубації.

Приклад 2. За запропонованим способом проведено дослідження крові 12 пацієнтів на наявність простатоспецифічного антигену ПСАз. За результатами дослідження по характеру хемотаксису і рівню лейкоцитолізу визначено діагностичні критерії імунодіagnostичної проби (в описі не наведено). Як перевагу запропонованого способу слід вказати його методичну доступність, що дозволяє проводити експрес-діагностичні дослідження на рівні поліклінічного прийому.

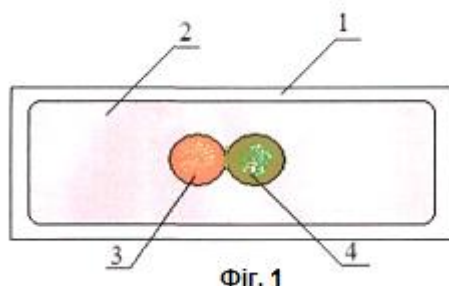
Отже, запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за способом-прототипом, рівень візуальності, методичності і доступності, і може бути використаний для проведення експрес-діагностики в урологічній практиці.

Джерело інформації:

1. Григорьев М.Э., Степенский А.Б., Лебедев Д.В. Диагностическое значение простатического специфического антигена и его вариантов и молекулярных форм в сыворотке крови и мочи в скрининге и мониторинге больных ДТП. - MATERIA MEDICA - 2002. - 33. - С. 46-55.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб постановки імунодіagnostичної проби на сироватковий простатоспецифічний антиген, що включає інкубацію стандартизованого препарату із дослідним біоматеріалом *in vitro*, який **відрізняється** тим, що на силіконоване предметне скло наносять 20 мкл препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла у вигляді мікрокраплини, витримують упродовж 30-45 хв. при 18-24 °С для підсихання, після чого на поверхню скла наносять 20 мкл суспензії лейкоцитів в цитратній аутологічній плазмі пацієнта у вигляді краплі таким чином, щоб її край торкався по дотичній краю нанесеної краплини стандартизованого препарату специфічного анти-ПСАз-антитіла, готовий мікропрепарат вміщують на предметний столик люмінесцентного мікроскопа і реєструють реакцію взаємодії між інгредієнтами упродовж 24 год. у режимі низької інтенсивності поляризованої флуоресценції при відкритій шторці плівкової фотокамери, причому діагностичний висновок формулюють за характером хемотаксису і імунного лізису лейкоцитів.



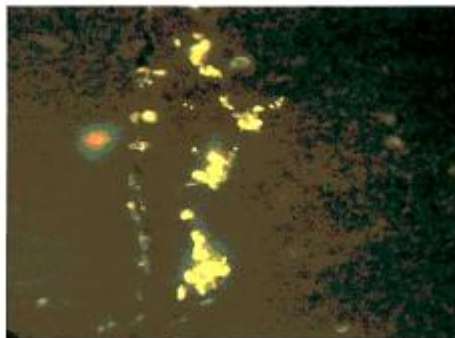


Fig. 2

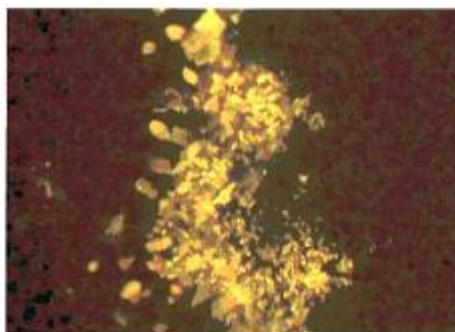


Fig. 3

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601